

MODUL BIOTEKNOLOGI

Oleh:
NINDA VINCIA QUINTARI
1411060354

Dosen Pembimbing
AKBAR HANDOKO, M.Pd



FAKULTAS TARBIYAH DAN KEGURUAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI RADEN INTAN
LAMPUNG
1443 H / 2021 M

ABSTRAK

MODUL BIOTEKNOLOGI

Oleh :

NINDA VINCIA QUINTARI

1411060354

Pesatnya perkembangan ilmu dan teknologi menjadikan sebagai salah satu bidang ilmu dalam biologi yang harus dikuasai. Bioteknologi memiliki peranan positif bagi dunia pertanian, kesehatan serta lingkungan. Dalam dunia pertanian, bioteknologi membantu untuk mengurangi krisis pangan, memperbaiki kualitas pangan dan meningkatkan jumlah produksi hasil pertanian. Di bidang kesehatan, bioteknologi dapat mendiagnosis suatu penyakit genetis maupun non genetis serta mengobati penyakit tertentu. Dalam bidang lingkungan, bioteknologi dapat meningkatkan kualitas lingkungan yang telah tercemar.

Modul merupakan salah satu bentuk buku pembelajaran. Dalam modul substansi yang lebih ditekankan adalah kemandirian siswa (belajar sendiri pada jangka tertentu), Modul dapat dirumuskan sebagai unit yang lengkap dan berdiri sendiri dan terdiri atas suatu unit rangkaian kegiatan yang disusun membantu siswa mencapai sejumlah tujuan yang dirumuskan secara khusus dan jelas.

Kata Kunci : Modul Bioteknologi



KEMENTERIAN AGAMA
UIN RADEN INTAN LAMPUNG
FAKULTAS TARBIYAH DAN KEGURUAN

Alamat : Jl. Let. Kol. H. Endro Suratmin Sukarame 1 Bandar Lampung 35131 Telp.(0721)703260

PERSETUJUAN

Judul Skripsi/Modul : Modul Bioteknologi
Nama Mahasiswi : Ninda Vincia Quintari
NPM : 1411060354
Jurusan : Pendidikan Biologi
Fakultas : Tarbiyah dan Keguruan

MENYETUJUI

Untuk Dimunaqasyahkan dan Dipertahankan dalam sidang
Munaqasyah Fakultas Tarbiyah dan Keguruan

UIN Raden Intan Lampung

Mengetahui

Ketua Prodi Pendidikan Biologi

Pembimbing

Akbar Handoko, M.Pd.

NIP.

Dr. Eko Kuswanto, M.Si

NIP. 19750514 2008 011 009



**KEMENTERIAN AGAMA
UIN RADEN INTAN LAMPUNG
FAKULTAS TARBIYAH DAN KEGURUAN**

Alamat: Jl. Letkol H. Endro Suratmin Sukarame Bandar Lampung Telp. (0721) 703260

PENGESAHAN

Proposal dengan judul: Modul Bioteknologi di susun oleh: **Ninda Vincia Quintari, NPM 1411060354**, Jurusan Pendidikan Biologi telah diujikan dalam sidang Munaqosyah Fakultas Tarbiyah dan Keguruan pada hari/tanggal: Kamis, 10 Juni 2021

TIM MUNAQOSYAH

Ketua

: **Dr. Eko Kuswanto, M.Si.** (.....)

Sekretaris

: **Aulia Novitasari, M.Pd.** (.....)

Penguji Utama

: **Fredi Ganda Putra, M.Pd.** (.....)

Pembahas II

: **Akbar Handoko, M.Pd.** (.....)

Mengetahui

Dekan Fakultas Tarbiyah dan Keguruan



Prof. Dr. H. Nirva Diana, M.Pd.

NIP. 19640828 198803 2 002

MOTTO

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ ءَامَنُوا إِذَا قِيلَ لَكُمْ تَفَسَّحُوا فِي الْمَجَالِسِ فَافْسَحُوا يَفْسَحِ
اللَّهُ لَكُمْ وَإِذَا قِيلَ انشُزُوا فَانْشُزُوا يَرَفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ ءَامَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا
الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ۚ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴿١١﴾

“Hai orang-orang beriman apabila kamu dikatakan kepadamu:
"Berlapanglapanglah dalam majlis", Maka lapangkanlah niscaya Allah
akan memberi kelapangan untukmu. dan apabila dikatakan:
"Berdirilah kamu", Maka berdirilah, niscaya Allah akan meninggikan
orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi
ilmu pengetahuan beberapa derajat. dan Allah Maha mengetahui apa
yang kamu kerjakan.” (Q.S. Al Mujaadilah:11)



PERSEMBAHAN

Segala Puji Bagi Allah SWT, Dzat Yang Maha Sempurna Sholawat serta Salam Selalu Tercurahkan Kepada Teladan Kehidupan Rasulullah Muhammad SAW. Dengan segala kerendahan hati, kupersembahkan karya sederhana ini sebagai tanda perjuangan, cinta dan kasih sayangku kepada :

1. Kedua orang tuaku tercinta, Ayahanda Amri Khautsar Dan Ibunda Eni Kurniati yang telah memberikan kasih sayang, semangat, dan doa sehingga anakmu yakin bahwa Allah SWT selalu memberikan yang terbaik untuk hamba-Nya.
2. Almamater Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung tercinta.



RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Ninda Vincia Quintari, dilahirkan di Pringsewu, Kabupaten Pringsewu pada tanggal 24 Juni 1995. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Amri Khautsar dan Ibu Eni Kurniati.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar (SD) Negeri 06 Wonodadi, Kecamatan Gadingrejo, Kabupaten Pringsewu dan lulus pada tahun 2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 01 Gadingrejo, Kabupaten Pringsewu dan lulus pada tahun 2011, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 02 Gadingrejo , Kabupaten Pringsewu dan lulus pada tahun 2014.

Penulis pada tahun 2014 diterima dan terdaftar sebagai mahasiswa jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Tarbiyah dan Keguruan, Universitas Islam Negeri (UIN) Raden Intan Lampung. Pada tahun 2017 penulis melaksanakan program Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Banyumas, Kecamatan Banyumas, Kabupaten Pringsewu, dan menjalankan program Praktek Pengalaman Lapangan (PPL) di MTs Al-Hikmah Way Halim, Kota Bandar Lampung.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, karena berkat limpahan hidayah, inayah dan rahmat-Nya maka modul ini dapat terselesaikan dengan baik. Shalawat serta salam disampaikan kepada Nabi Muhammad SAW dan keluarganya yang senantiasa menjadi Uswatun Hasanah bagi umat manusia hingga akhir zaman dengan Islam sebagai satu-satunya agama yang diridhai Allah SWT.

Penulis berterimakasih kepada seluruh pihak yang membantu dalam pembuatan Modul dengan judul “**Modul Bioteknologi**” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pendidikan pada Fakultas Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan modul ini dapat selesai karena tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang tulus ikhlas kepada :

1. Prof. Dr. Hj. Nirva Diana, M.Pd. Selaku Dekan Fakultas Tarbiyah UIN Raden Intan Lampung yang telah memberikan kesempatan dan kemudahan dalam mengikuti pendidikan hingga selesainya penulisan skripsi/modul.
2. Dr. Eko Kuswanto, M.Si. Selaku Ketua Jurusan Prodi Biologi.
3. FrediGanda Putra, M.Pd. Sebagai Sekertaris Jurusan Prodi Biologi.
4. Akbar Handoko, M.Pd. Selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan waktu, bimbingan dan arahan kepada penulis dari sebelum penelitian hingga terselesaikan nya skripsi/modul ini.
5. Dosen Pendidikan Biologi di Fakultas Tarbiyah dan Keguruan yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis.
6. Rekan-rekan seperjuangan serta angkatan 2014 khususnya kelas biologi F, yang selalu bersama penulis selama menempuh pendidikan, memotivasi selama perjalanan penulis menjadi mahasiswa UIN Raden Intan Lampung.

7. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi/modul ini. Semoga dengan kebaikan, bantuan, dan dukungan yang telah diberikan pada penulis mendapat balasan pahala yang setimpal dari Allah SWT dan semoga skripsi ini bermanfaat.

Penulis sangat menyadari bahwa dalam penulisan modul ini masih jauh dari kata sempurna. Semoga modul ini bermanfaat, khususnya bagi penulis dan bagi pembaca pada umumnya, amin.

Bandar Lampung, 2021

Penulis

Ninda Vincia Quintari

1411060354



DAFTAR ISI

COVER	i
PERSETUJUAN	ii
PENGESAHAN	iii
MOTTO	iv
PERSEMBAHAN	v
RIWAYAT HIDUP	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Pembelajaran	2
BAB II BIOTEKNOLOGI	
A. Pengertian Bioteknologi	3
B. Sejarah Bioteknologi	4
C. Cabang Keilmuan Bioteknologi	6
D. Jenis Jenis Bioteknologi	8
E. Bioteknologi Konvensional	9
F. Bioteknologi Modern	17
BAB III STRUKTUR DNA	40
BAB III PEMANFAATAN BIOTEKNOLOGI	
A. Aplikasi Bidang Pangan	48
B. Aplikasi Bidang Pertanian dan Peternakan	48
C. Aplikasi Bidang Perikanan	48
D. Aplikasi Bidang Lingkungan.....	50
E. Aplikasi Bidang Kesehatan dan Pengobatan	50
F. Aplikasi pada Bidang Lingkungan	51
BAB IV PEMBUATAN KULTUR TANAMAN	
A. Kultur Anggrek dengan Stek Batang	53
B. Kultur Anggrek Skala Laboratorium	54

BAB V KESIMPULAN

A. Penutup.....	61
-----------------	----

DAFTAR RUJUKAN

LAMPIRAN



DAFTAR GAMBAR

GAMBAR 2.1	Glass Wool.....	13
GAMBAR 2.2	Proses Tansduksi Pada Sel Bakteri.....	19
GAMBAR 2.3	Proses Kloning	28
GAMBAR 2.4	Siklus PCR	33
GAMBAR 2.5	Struktur DNA	40
GAMBAR 2.6	Proses Transkripsi Dan Translasi	42
GAMBAR 2.7	Proses Transkripsi	44
GAMBAR 2.8	Proses Translasi.....	44
GAMBAR 2.9	Sterelisasi Botol Kultur	53
GAMBAR 2.10	Proses Inisiasi.....	55
GAMBAR 2.11	Proses Sterelisasi Alat	56
GAMBAR 2.12	Proses Multiplikasi	56
GAMBAR 2.13	Proses Pengakaran.....	57
GAMBAR 2.14	Proses Aklimatisasi	58



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Meningkatnya kualitas hidup serta nilai-nilai budaya manusia itu sendiri akan menuntut peningkatan dari kualitas kebutuhannya, sedangkan pertambahan jumlah populasi manusia akan meningkatkan kuantitas kebutuhan tersebut. Untuk memenuhi kebutuhan manusia tersebut maka berkembanglah suatu kemajuan teknologi baru yang memberikan kesempatan kepada manusia untuk menjadi arsitek kehidupan yaitu Bioteknologi. Bioteknologi berasal dari kata “bio” dan “teknologi” yang dapat diartikan sebagai penggunaan organisme atau sistem hidup untuk memecahkan suatu masalah atau untuk menghasilkan produk yang berguna.

Dalam kurun waktu 20 tahun terakhir ini, Bioteknologi telah mengalami perkembangan sangat pesat. Di beberapa negara maju, Bioteknologi mendapatkan perhatian serius dan dikembangkan secara intensif dengan harapan dapat memberi solusi untuk mengatasi berbagai permasalahan yang dihadapi manusia pada saat ini maupun yang akan datang yang menyangkut kebutuhan pangan, obat-obatan, penelitian, yang pada gilirannya semuanya bertujuan untuk meningkatkan kesejahteraan hidup umat manusia.¹

Bioteknologi telah mengalami perkembangan yang menakjubkan dan semakin banyak dimanfaatkan dalam kehidupan kita. Kemajuan ini terutama ditunjang oleh perkembangan yang sangat pesat pada bidang ilmu biologi molekuler dan teknologi rekayasa genetika. Keunggulan bioteknologi dalam pertanian telah kita manfaatkan dalam kehidupan sehari-hari dari teknik perbanyakan bibit unggul dan tanaman bebas virus dengan menggunakan teknik kultur jaringan, perakitan varietas tanaman hasil rekayasa genetika.

Bioteknologi pada mikroorganisme, berhasil melipat gandakan kemampuan produksi bakteri penghasil zat aktif untuk bahan baku obat dengan teknik rekayasa genetika, begitu pula dengan

¹ Sepianto, (2017). Modul Bioteknologi Dasar. Universitas Esa Unggul. Jakarta.

mikroba penghasil alkohol dan enzim tertentu. Selain itu, biologi molekuler telah kita manfaatkan pula dalam peningkatan kualitas kesehatan dengan memanfaatkan teknik vaksin, serta diagnostik untuk penyakit-penyakit berbahaya maupun deteksi dini terhadap kontaminasi mikroba patogen.²

Pada modul ini akan dibahas mengenai materi bioteknologi sebagai bahan pembelajaran untuk meningkatkan kemampuan dan pengetahuan mahasiswa belajar mandiri. Selain itu modul ini juga dapat menjadi rujukan mahasiswa dalam proses belajar.

B. Tujuan Pembelajaran

Adapun tujuan dari pembuatan modul ini adalah:

1. Mahasiswa mampu mengetahui mengenai Bioteknologi
2. Mahasiswa mampu menjelaskan mengenai cabang keilmuan Bioteknologi
3. Mahasiswa mampu menjelaskan mengenai Bioteknologi Konvensional
4. Mahasiswa mampu menjelaskan mengenai Bioteknologi Modern
5. Mahasiswa mampu menjelaskan mengenai Struktur DNA
6. Mahasiswa mampu menjelaskan tentang pemanfaatan aplikasi bioteknologi dari berbagai bidang
7. Mahasiswa mampu menjelaskan pembuatan Kultur Tanaman

² Tajuddin, Teuku, (2011). Pengantar bioteknologi. Universitas terbuka. *Jurnal bioteknologi*.

BAB II

BIOTEKNOLOGI

A. Pengertian Bioteknologi

Istilah bioteknologi untuk pertama kalinya dikemukakan oleh Karl Ereky seorang insinyur Hongaria pada tahun 1917 untuk mendeskripsikan produksi babi dalam skala besar dengan menggunakan bit gula sebagai sumber pakannya. Beragam batasan dan pengertian dikemukakan oleh berbagai lembaga untuk menjelaskan tentang bioteknologi. Beberapa diantaranya akan diulas singkat sebagai berikut:

1. Menurut Bull et al. (1982), bioteknologi merupakan penerapan asas-asas sains (ilmu pengetahuan alam) dan rekayasa (teknologi) untuk pengolahan suatu bahan dengan melibatkan aktivitas jasad hidup untuk menghasilkan barang atau jasa.
2. Bioteknologi merupakan penerapan prinsip-prinsip ilmu pengetahuan dan rekayasa untuk penanganan dan pengolahan bahan dengan bantuan agen biologis untuk menghasilkan bahan atau jasa.
3. Bioteknologi adalah teknik pendayagunaan organisme hidup atau bagian organisme untuk membuat atau memodifikasi suatu produk dan meningkatkan sifat tanaman atau hewan atau mengembangkan mikroorganisme untuk penggunaan khusus.
4. Menurut Primrose (1987), Secara lebih sederhana bioteknologi merupakan eksploitasi komersial organisme hidup atau komponennya seperti enzim.
5. Bioteknologi berasal dari dua kata, yaitu 'bio' yang berarti makhluk hidup dan 'teknologi' yang berarti cara untuk memproduksi barang atau jasa.

Berdasarkan terminologinya maka bioteknologi dapat diartikan sebagai berikut:

1. “Bio” memiliki pengertian agen hayati yang meliputi: Organisme (bakteri), jamur (ragi atau kapang), jaringan atau sel (kultur sel tumbuhan atau hewan) dan komponen sub-selulernya (enzim).
2. “Tekno” memiliki pengertian teknik atau rekayasa yaitu segala sesuatu yang berkaitan dengan rancang-bangun, Misalnya untuk rancang bangun suatu bioreaktor. Cakupan teknik disini sangat luas antara lain teknik industri dan kimia.
3. “Logi” memiliki pengertian ilmu pengetahuan alam (sains) yang mencakup biologi, kimia, fisika, matematika. Ditinjau dari sudut pandang biologi, maka bioteknologi merupakan penerapan biologi molekuler, mikrobiologi, biokimia, dan genetika.

B. Sejarah Bioteknologi

Bioteknologi dalam artian pemanfaatan mikroorganisme untuk mengolah makanan dan minuman telah dikenal sejak jaman dahulu sebelum masehi. Orang mesir kuno telah mengenal pemanfaatan mikroorganisme untuk membuat bir, anggur, vinegar, keju, yoghurt. Bioteknologi telah mengalami perkembangan sesuai jamannya untuk memproduksi alkohol, penisilin, dan akhirnya antibodi monoklonal.

Prospek ke depan, terdapat indikasi bahwa perkembangan penerapan bioteknologi dalam segala bidang kehidupan akan semakin meningkat dengan didukung oleh penemuan-penemuan baru dan penerapan metode-metode baru. Kemajuan yang sangat menggembirakan dalam bioteknologi adalah penerapan rekayasa genetika dengan menyisipkan gen-gen tertentu yang dikehendaki kedalamsel yang telah dikultur dengan tujuan untuk memproduksi insulin dan/atau beberapa hormon pertumbuhan dalam skala besar. Demikian pula penggunaan antibodi monoclonal sangat meluas baik untuk penelitian maupun uji klinis termasuk diagnosis dan bahkan upaya mencapai target spesifik untuk pengobatan.

Perencanaan strategis dalam Bioteknologi: kompetensi menguasai bioteknologi dapat tercapai manakala pembinaan sumber daya manusia diorientasikan pada kompetensi meneliti dan menerapkan metode-metode mutakhir bioteknologi. Kemampuan menguasai dan mengaplikasikan metode-metode mutakhir bioteknologi seperti: kultur jaringan, rekayasa genetik, hibridoma, kloning, dan *polymerase chains reaction* (PCR) secara prospektif akan mampu menghasilkan produk-produk penemuan baru.

Bull, et al., (1982) menyatakan bahwa: Istilah bioteknologi mempunyai pengertian sebagai penerapan teknik-teknik biologi, biokimia dan rekayasa dalam pengolahan bahan dengan memanfaatkan agensia jasad hidup dan komponen-komponen untuk menghasilkan barang dan jasa.

Aplikasi bioteknologi sesungguhnya telah berlangsung cukup lama, dalam peradapan manusia seperti upaya produksi antibiotik, fermentasi, alkohol, pangan dan teknologi pengolahan limbah yang semuanya dapat dikelompokkan ke dalam bioteknologi konvensional. Tetapi mengapa nampaknya bioteknologi baru saja berkembang pada kurun abad ke dua puluh ini? Karena secara implisit yang dimaksud bioteknologi adalah bioteknologi modern, yang intinya adalah rekayasa genetik, dengan teknik gen kloning yang berkembang berdasar penemuan struktur dan fungsi DNA oleh Watson dan Crick.

Dalam perkembangannya bioteknologi telah mencapai tingkat rekayasa yang lebih terarah sehingga hasilnya dapat dikendalikan. Dengan teknik yang dikenal sebagai teknik DNA rekombinan, atau secara populer dikenal sebagai rekayasa genetika. Para ilmuwan dapat menyambung molekul-molekul DNA yang berbeda menjadi suatu molekul DNA rekombinan yang inti prosesnya adalah “kloning gena”.³

³ Seprianto, (2017). Modul Bioteknologi Dasar. Universitas Esa Unggul. Jakarta.

C. Cabang Keilmuan Bioteknologi

Para ahli menerjemahkan fenomena-fenomena alam dengan berbagai metode ilmiah dan dirangkum menjadi suatu ilmu. Ilmu selanjutnya dikembangkan dan diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari dengan bentuk teknologi. Beberapa ilmu dan teknologi yang mendukung bioteknologi adalah sebagai berikut.

1. Mikrobiologi

Mikrobiologi merupakan cabang biologi yang mempelajari tentang mikroba atau jasad renik. Pengetahuan tentang sifat-sifat dan struktur mikroba mendukung kemajuan bioteknologi. Misalnya, mikroba berupa bakteri dapat tumbuh pada kisaran suhu tertentu. Pengetahuan mengenai bakteri ini dapat digunakan untuk membuat yoghurt, yang menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* pada kisaran suhu tertentu.

2. Biologi Sel

Biologi sel merupakan cabang biologi yang mempelajari tentang sifat-sifat dan struktur sel. Pengetahuan mengenai sifat protoplasma suatu sel yang dapat berfusi atau bergabung dengan protoplasma sel lain pada spesies yang sama maupun berbeda, bermanfaat bagi aplikasi fusi sel untuk meningkatkan keragaman hayati. Fusi sel tersebut dapat dilakukan pada sel tanaman kedelai dengan jagung serta sel tanaman kedelai dengan kacang kapri.

Contoh lainnya, pengetahuan mengenai sifat totipotensi pada sel-sel tanaman bermanfaat untuk kultur jaringan. Totipotensi merupakan kemampuan sel-sel tanaman untuk berdiferensiasi dan tumbuh menjadi berbagai organ dan membentuk tanaman yang baru.

3. Genetika

Genetika merupakan cabang biologi yang mempelajari pewarisan sifat-sifat genetik makhluk hidup dari suatu generasi ke generasi berikutnya. Pemahaman mengenai bentuk dan karakteristik materi pewaris sifat, yaitu DNA (gen) akan membantu percepatan kemajuan bioteknologi. Tanaman transgenik tomat yang tahan disimpan lama, insulin manusia yang disintesis dari bakteri

Escherichia coli dan lainnya merupakan penerapan ilmu genetika dalam bioteknologi.

4. Biokimia

Biokimia merupakan cabang ilmu kimia yang mempelajari makhluk hidup dari aspek kimianya. Biokimia menganggap hidup adalah kimia, gejala hidup adalah gejala kimia dan proses-proses hidup diselenggarakan atas dasar reaksi dan peristiwa kimia. Dengan biokimia maka ahli bioteknologi memperlakukan makhluk hidup sebagai bahan kimia yang dapat dipadukan dan direkayasa.

5. Immunologi

Imunologi mempelajari semua aspek sistem imun (kekebalan tubuh) dalam merespons atau melawan mikroorganisme atau unsur asing penyebab penyakit (seperti virus, bakteri, dan racun dari bakteri), termasuk struktur dan fungsi sistem imun, kegagalan pada sistem imun, imunisasi, dan transplantasi organ tubuh.

Semenjak Edward Jenner memperkenalkan vaksin dalam mencegah penyakit cacar di tahun 1796, pemahaman kita tentang imunologi berkembang pesat, antara lain tentang peranan mikroba dalam menimbulkan penyakit, interaksi sel pembentuk antibodi dan antigen, serta implikasi dari sistem imun mulai disadari. Antigen, seperti bakteri berikut racunnya, memicu pembentukan antibodi dalam darah setelah adanya serangan penyakit infeksi. Riset terhadap AIDS sangat intensif dilakukan untuk mengetahui mekanisme defisiensi sistem imun, serta penyakit-penyakit yang timbul karena autoimun, seperti *rheumatoid*, *arthritis*, *lupus erythematosus*, yang terjadi karena reaksi pertahanan tubuh yang berlebihan terhadap komponen miliknya sendiri.

6. Teknologi Bioinformatika dan Biologi Komputasi

Teknologi bioinformatika mengembangkan algoritma, teknik komputasi dan statistika untuk mengelola dan menganalisis data biologi dalam menghasilkan sebuah informasi, sedangkan biologi komputasi melakukan simulasi data biologi berdasarkan asumsi-asumsi dalam mengembangkan pengetahuan biologi untuk menghasilkan sebuah hipotesis.

7. Teknologi Antibodi Monoklonal

Teknologi antibodi monoklonal menggunakan sel-sel sistem imunitas yang membuat protein yang disebut antibodi. Sistem kekebalan kita tersusun dari sejumlah tipe sel yang bekerja sama untuk melokalisir dan menghancurkan substansi yang dapat memasuki tubuh kita. Tiap tipe sel mempunyai tugas khusus. Beberapa dari sel tersebut dapat membedakan komponen dari sel tubuh sendiri (self) dan sel-sel asing (nonself). Salah satu dari sel-sel yang cerdas ini adalah sel limfosit B yang mampu menanggapi masuknya substansi asing dengan cara menghasilkan antibodi. Antibodi akhirnya akan mengikat substansi asing dengan keakuratan yang luar biasa.

8. Teknologi Sel dan Kultur Jaringan

Teknologi sel dan kultur jaringan adalah teknologi yang memungkinkan kita menumbuhkan sel atau jaringan dalam nutrisi yang sesuai di laboratorium.⁴

D. Jenis Jenis Bioteknologi

1. Bioteknologi konvensional

Bioteknologi konvensional sangat terbatas pada peran mikroorganisme dengan teknik fermentasi dalam skala kecil dan pembuatannya masih menggunakan teknik sederhana. Prinsip dasar bioteknologi konvensional adalah memanfaatkan mikroorganisme utuh secara langsung tanpa proses rekayasa sehingga pemanfaatannya masih sangat terbatas. Bioteknologi konvensional yang sering kita dengar di kehidupan sehari-hari adalah teknik fermentasi seperti pembuatan tempe, tape dan yogurt.

2. Bioteknologi modern

Bioteknologi modern kita kenal dengan melibatkan rekayasa genetika sehingga menghasilkan DNA rekombinan dan organisme transgenik yang dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan produk

⁴ Tajuddin, Teuku, (2011). Pengantar bioteknologi. Universitas terbuka. *Jurnal bioteknologi*.

yang di inginkan. Pada prinsipnya, bioteknologi modern merupakan pemanfaatan bagian dari mikroorganisme dengan melibatkan teknologi modern.

Metode-metode mutakhir bioteknologi (current methods of biotechnology) seperti:

1. Kultur jaringan merupakan suatu metode untuk memperbanyak jaringan/sel yang berasal atau yang didapat dari jaringan orisinal tumbuhan atau hewan setelah terlebih dahulu mengalami pemisahan (disagregasi) secara mekanis, atau kimiawi (enzimatis) secara in vitro (dalam tabung kaca).
2. Teknologi DNA rekombinan (recombinan DNA technology) adalah suatu metode untuk merekayasa genetika dengan cara menyisipkan (insert) gena yang dikehendaki ke dalam suatu organisme. Transgenik adalah suatu metode untuk Rekayasa protein (protein engineering).
3. Hibridoma adalah suatu metode untuk menggabungkan dua macam sel eukariot dengan tujuan mendapatkan sel hibrid yang memiliki kemampuan kedua sel induknya.
4. Kloning adalah suatu metode untuk menghasilkan keturunan yang dikehendaki sama persis dengan induknya.
5. Polymerase chains reaction (PCR) merupakan metode yang sangat sensitif untuk mendeteksi dan menganalisis sekuen asam nukleat.⁵

E. Bioteknologi Konvensional

1. Teknik Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses perubahan enzimatik secara anaerob yang berasal dari senyawa organik kompleks menjadi produk organik yang lebih sederhana. Proses fermentasi menggunakan mikroorganisme yang bersifat tidak patogen sehingga aman bagi

⁵ Nurcahyo, Heru, (2011). Diktat Bioteknologi. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.

kesehatan tubuh. Proses ini dapat menghasilkan alkohol, asam dan gas. Salah satu tujuan utama fermentasi adalah untuk mengawetkan makanan. Adanya perubahan karbohidrat menjadi asam organik dapat membuat makanan menjadi tahan lama.

Keberhasilan proses fermentasi sangat bergantung pada kondisi lingkungan. Hal ini terjadi karena mikroorganisme yang digunakan membutuhkan kesesuaian lingkungan agar dapat tumbuh dengan baik. Ketidaksesuaian kondisi lingkungan saat proses inkubasi dapat menyebabkan fermentasi tidak berjalan atau produk yang dihasilkan bersifat toksik.

Dengan demikian proses fermentasi merupakan proses perubahan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan menggunakan mikroorganisme. Karena manfaatnya yang cukup banyak maka proses ini biasa digunakan oleh manusia sebagai bioteknologi konvensional untuk meningkatkan potensi sumber makanan.

Sebagai suatu proses fermentasi memerlukan:

1. Mikroba sebagai inokulum (starter).
2. Tempat (wadah) untuk menjamin proses fermentasi berlangsung dengan optimal.
3. Substrat sebagai tempat tumbuh (medium) dan sumber nutrisi bagi mikroba.
4. Produk sebagai sesuatu yang dihasilkan dari proses fermentasi.

Bioteknologi fermentasi menyangkut hal-hal yang berkaitan dengan proses fermentasi yang meliputi:

1. Sifat Fermentasi
2. Prinsip Kultivasi Mikroba dalam Sistem Cair
3. Desain Bioreaktor (fermenter)
4. Desain Media
5. Instrumentasi dan Pengendalian Proses dalam Bioreaktor
6. Teknik Pengukuran
7. Pemindahan Massa dan Energi

8. Peningkatan Skala
9. Fermentasi pada substrat

2. Prinsip-prinsip Fermentasi

Hal-hal yang perlu diperhatikan agar fermentasi dapat berjalan dengan optimal maka harus memperhatikan faktor-faktor berikut ini:

1. Aseptis artinya terbebas dari kontaminan
2. Volume kultur relatif konstan (tidak bocor atau menguap)
3. Kadar oksigen terlarut harus memenuhi standar
4. Kondisi lingkungan seperti suhu, pH harus terkontrol
5. Komposisi medium pertumbuhan harus mencukupi kebutuhan mikroba
6. Penyiapan inokulum harus murni

3. Sifat fermentasi

Sifat sifat fermentasi antara lain:

1. Fermentasi aerob

Memerlukan oksigen untuk mengubah substrat gula menjadi asam piruvat dan karbondioksida (CO₂).

2. Fermentasi anaerob

Tidak memerlukan oksigen jadi gula akan di ubah menjadi asam piruvat kemudian asetal dehidra dan akhirnya menjadi alkohol, etanol atau metanol dan asam laktat.

4. Prinsip kultivasi mikroba dalam sistem cair

Mikroba berada dalam cairan yang mengandung nutrisi sebagai substrat untuk tumbuh dan berkembang bercampur dengan produk-produk yang dihasilkan termasuk limbah. Nutrien dan oksigen yang diperlukan untuk pertumbuhan optimal mikroba harus tercampur merata (homogen) pada semua bagian fermenter.

Sistem Fermenter Terbuka dan Tertutup

1. Tertutup, Semua nutrisi ditambahkan pada awal fermentasi dan pada akhir fermentasi dikeluarkan bersama produknya. Sebagai contoh: pembuatan bir (brewing), antibiotik, dan enzim.
2. Terbuka (kontinu), Jika seluruh komponen sistem seperti mikroorganisme dan nutrisi secara terus menerus terjadi pemasukan medium kultur dan pengeluaran biomas bersama produk-produk fermentasi lainnya. Sebagai contoh: SCP (petrokimia).

Tipe fermenter

Desain fermenter mulai dari yang sederhana (tangki dengan putaran) sampai yang integrated system dengan komputer. Fermenter berdasarkan sistem tipe operasinya dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu:

1. Septis untuk pembuatan pengembang roti, bir (brewing).
2. Aseptis untuk memproduksi fine product seperti: antibiotik, asam amino, polisakarida dan single cell protein (SCP).

Skala fermenter

Fermenter berdasarkan skala produksinya dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu:

1. Skala kecil (small scale) untuk industri rumah tangga (home industry).
2. Skala besar (large scale) untuk industri skala besar (petrokimia industry).

5. Desain Bioreaktor

Istilah fermenter (bioreaktor) digunakan untuk tempat berlangsungnya proses fermentasi. Pada prinsipnya fermenter harus menjamin pertumbuhan mikroba dan produk dari mikroba di

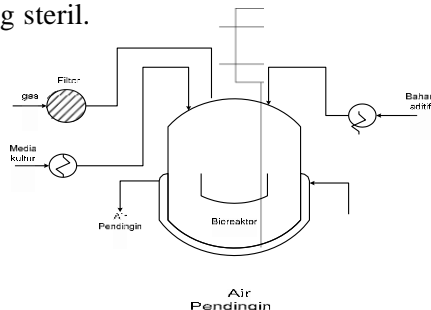
dalam fermenter. Semua bagian di dalam fermenter pada kondisi yang sama dan semua nutrisi termasuk oksigen harus tersedia merata pada setiap bagian dalam fermenter dan produk limbah seperti; panas, CO₂ dan metabolit harus dapat dikeluarkan (remove). Fermenter sebagai wadah harus dapat memberikan kondisi lingkungan fisik yang cocok bagi katalis sehingga dapat berinteraksi secara optimal dengan substrat. Oleh karena itu, wadah perlu didesain sedemikian rupa sehingga proses dalam wadah dapat dimonitor dan dikontrol.

Bioreaktor adalah suatu tangki yang di dalamnya terjadi proses kimia yang melibatkan mikroorganisme atau zat-zat biokimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme.

Proses aktivitas organisme dalam bioreaktor sangat dipengaruhi oleh kondisi- kondisi: pH, suhu dan lain-lain, oleh karena itu pada bioreaktor dilengkapi oleh Kontrol Aliran Gas (seperti O₂, N₂, CO₂), suhu, pH, Kadar oksigen terlarut, kecepatan putar pengaduk.

Untuk mencegah terjadinya kontaminasi produksi dari lingkungan luarnya bioreaktor dan semua pipa pendukung harus disterilkan (biasanya dengan uap yang bertekanan tinggi). Sterilisasi berarti hilangnya berbagai macam bentuk organisme yang dapat tumbuh baik organisme yang menguntungkan maupun yang merugikan dan organisme yang dapat merusak maupun mematikan kultur murni yang dilakukan. Organisme ini dapat berbentuk seperti bakteri, virus, fungi, spora dan mikroorganisme yang lainnya.

Untuk mencegah masuknya kontaminan melalui udara ke dalam sistem, udara yang masuk harus terlebih dahulu dilewatkan melalui glass wool yang steril.



Gambar 2.1. glass wool

Pada skala laboratorium atau industri skala kecil (small scale), pemerataan medium dalam fermenter dapat dilakukan cukup dengan mengocok atau memakai shaker. Pada skala besar (large scale) dengan volume 2.000 liter, maka perlu desain fermenter khusus yang menjamin medium dapat tercampur homogen. Masalah utama fermenter untuk produksi skala besar adalah pemerataan medium kultur dalam fermenter. Harus homogen artinya medium kultur harus tercampur merata. Untuk mendapatkan sistem fermentasi yang optimum, maka fermenter harus memenuhi syarat sebagai berikut:

1. Terbebas dari kontaminan
 2. Volume kultur relatif konstan (tidak bocor atau menguap)
 3. Kadar oksigen terlarut harus memenuhi standar
 4. Kondisi lingkungan seperti: suhu, pH harus terkontrol.
- Stirred tank reactor system model yang banyak dipakai.

Masalah utama fermenter untuk produksi skala besar adalah pemerataan medium kultur dalam fermenter. Harus homogen artinya medium kultur harus tercampur merata. Oleh karena itu, wadah perlu didesain sedemikian rupa sehingga proses dalam wadah dapat dimonitor dan dikontrol. Fermenter memberikan kondisi lingkungan fisik yang cocok bagi katalis sehingga dapat berinteraksi secara optimal dengan substrat. Desain fermenter mulai dari yang sederhana (tangki dengan putaran) sampai yang integrated system dengan komputer.

6. Desain Media

Medium sebagai tempat tumbuh dan berkembang harus menjamin ketersediaan dan kebutuhan mikroba untuk hidup dan tumbuh berkembang. Medium biasa disebut substrat. Medium harus mengandung nutrisi dan oksigen yang dibutuhkan mikroba. Mikroba berada dalam medium yang mengandung nutrisi sebagai substrat untuk tumbuh dan berkembang bercampur dengan produk-produk yang dihasilkan termasuk limbah.

7. Inokulum

Inokulum adalah agen hayati meliputi organisme dan komponen sub selulernya. Mikroba memiliki sifat khas sehingga dapat digunakan sebagai agen untuk memproduksi bahan-bahan kimia yang diperlukan oleh manusia. Mikroba memiliki kemampuan mensintesis berbagai senyawa di alam dan juga dapat menghasilkan berbagai jenis enzim yang dapat dimanfaatkan dalam industri pengolahan makanan, bahan kimia, dan bahan farmasi. Enzim yang dihasilkan merupakan katalisator yang mendorong terjadinya proses sintesis dan perombakan bahan baku.

Jenis	Inokulum	Subtrat	Produk
Jamur	<i>Rhizopus oligoporus</i>	Kedele	Kedele
		Ampas kacang	Ampas kacang
Khamir	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bahan roti, tetes tebu	Roti
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bahan dasar karbohidrat: beras, ketan, ketela	Tape
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Air anggur, bir, brem	Anggur, Bir, Brem
Bakteri	<i>Acetobacter xylinum</i>	Air Kelapa	Nata de coco
	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Air Susu	Yogurt

8. Produk-produk Aplikasi Industri Bioteknologi Fermentasi

Dalam dimensi baru teknologi fermentasi mikroba berperan untuk menghasilkan:

1. Bir

Sari buah atau gula diiberi *Saccharomyces cerevisiae* kemudian diinkubasikan akan didapatkan minuman beralkohol.

2. Yoghurt

Diproduksi dengan cara memfermentasi air susu dengan bakteri bukan khamir. Biasanya menggunakan campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Pada pembuatan yoghurt air susu dipasteurisasi pada suhu 73°C selama 15 detik. Kemudian ditambahkan kultur starter bakteri. Fermentasi pada suhu 40°C selama 2,5-3,5 jam sampai susu menggumpal, dan asam laktat dihasilkan. Bakteri mengubah gula susu (laktosa) pada kondisi anaerobic. Lactose diubah menjadi asam laktat yang bersifat menggumpalkan casein (protein susu). Dihasilkan krem yoghurt tebal dengan rasa sedikit asam. Yoghurt sebaiknya disimpan pada suhu 4°C untuk mengurangi aktivitas mikroba.

3. Keju

Berbagai jenis bakteri dapat digunakan untuk memfermentasi susu menjadi keju tergantung jenis keju yang dihasilkan. Biasanya digunakan spesies *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Enzim yang diperlukan untuk menghasilkan keju adalah rennet yang mengandung chymosin yang bersifat menggumpalkan casein.

4. VCO

Santan kelapa bagian kanil (lapisan atas) diberikan inokulum dieramkan beberapa hari kemudian didapatkan

minyak kelapa murni (VCO) yang memiliki khasiat sebagai obat.

5. Nata de coco (air kelapa), Nata de pina (nanas), nata de soya (limbah tahu) . *Acetobacter xylinum* ditumbuhkan pada substrat gual yang diberi air kelapa dieramkan beberapa hari didapatkan nata de coco.⁶

F. Bioteknologi Modern

1. Teknologi DNA Rekombinan

Teknologi DNA Rekombinan telah memberikan banyak manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan maupun bagi kehidupan manusia sehari-hari. Beberapa jenis obat-obatan, vaksin, bahan pangan, bahan pakaian dan lainnya telah diproduksi dengan memanfaatkan teknologi DNA Rekombinan.

Dalam kehidupan kita sehari-hari, secara langsung maupun tidak langsung, sebagian dari kita pernah berhubungan dengan hasil penggunaan teknologi DNA Rekombinan. Contoh: insulin telah digunakan untuk mengobati penyakit diabetes. Penyakit diabetes pada manusia diobati dengan insulin manusia. Contoh lainnya adalah kapas transgenik. Kapas transgenik pernah ramai dibicarakan di media masa kita pada awal abad 21 ini. Salah satu kapas transgenik adalah kapas-bt. Tanaman kapas-bt telah mengandung gen penyandi toksin yang berasal dari bakteri *Bacillus thuringiensis* (Bt). Toksin tersebut dapat membunuh hama kapas sehingga kapas-bt tersebut tahan terhadap serangan hama. Tanaman kapas ini tahan terhadap serangan hama (ulat) karena tanaman ini menghasilkan toksin yang dapat membunuh hamanya (ulat). Toksin tersebut disandikan oleh gen yang berasal dari bakteri *Bacillus thuringiensis*

Genom tanaman kapas ini mengandung gen yang berasal dari bakteri *Bacillus thuringiensis*. Oleh karena itu, tanaman kapas ini seringkali disebut sebagai kapas-Bt (Bt = *Bacillus thuringiensis*). Kapas-

⁶ Dosen Pendidikan Biologi, (2015). Materi penataran Guru guru MGMP Bidang Biologi. FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.

bt merupakan salah satu contoh organisme transgenik. Organisme transgenik adalah organisme yang mengandung gen yang berasal dari jenis organisme lainnya. Oleh karena tanaman kapas ini mengandung gen yang asalnya dari organisme lainnya, maka kapas ini secara umum disebut tanaman kapas transgenik.

Bakteri penghasil insulin dan tanaman kapas-bt tersebut merupakan sebagian dari hasil rekayasa yang dilakukan manusia terhadap makhluk hidup dengan menggunakan teknologi DNA rekombinan.

Teknik DNA rekombinan adalah rekayasa genetika untuk menghasilkan sifat baru dengan cara merekombinasikan gen tertentu dengan DNA genom. Teknik DNA rekombinan merupakan kumpulan bertujuan untuk merekombinasi gen dalam tabung reaksi. Teknik DNA rekombinan meliputi isolasi DNA, teknik memotong DNA, teknik menggabung DNA dan teknik untuk memasukan DNA ke dalam sel hidup. Teknologi DNA rekombinan atau sering disebut juga rekayasa genetika ini adalah suatu ilmu yang mempelajari pembentukan kombinasi materi genetik yang baru dengan cara penyisipan molekul DNA ke dalam suatu vektor sehingga memungkinkannya terjadinya integrasi dan mengalami perbanyakan dalam suatu sel organisme lain yang berperan sebagai sel inang. Manfaat rekayasa genetika ini diantaranya adalah dimungkinkannya melakukan isolasi dan mempelajari fungsi masing-masing gen dan mekanisme kontrolnya. Selain itu, rekayasa genetika juga memungkinkan diperolehnya suatu produk dengan sifat tertentu dalam waktu lebih cepat dan jumlah lebih besar daripada produksi secara konvensional. Sejak jaman dahulu, nenek moyang kita telah mengetahui adanya keanekaragaman makhluk hidup.

1) Dasar Teknologi DNA Rekombinan

Transfer DNA atau perpindahan DNA ke dalam bakteri dapat melalui tiga cara, yaitu konjugasi, transformasi, dan transduksi. DNA yang masuk ke dalam sel bakteri selanjutnya dapat berintegrasi dengan DNA atau kromosom bakteri sehingga terbentuk kromosom rekombinan. Konjugasi merupakan perpindahan DNA dari satu sel (sel donor) ke dalam sel bakteri lainnya (sel resepien) melalui kontak

fisik antara kedua sel. Sel donor memasukkan sebagian DNA-nya ke dalam sel resepien.

a. Konjugasi

Merupakan perpindahan DNA dari satu sel (sel donor) ke dalam sel bakteri lainnya (sel resepien) melalui kontak fisik antara kedua sel. Sel donor (sel jantan) memasukkan sebagian DNA-nya ke dalam sel resepien (sel betina). Transfer DNA ini melalui pili seks yang dimiliki oleh sel jantan. Sel betina tidak memiliki pili seks. DNA dari sel jantan berpindah ke dalam sel betina secara replikatif. Oleh karena itu, setelah proses konjugasi selesai, sel jantan tidak kehilangan DNA. Setelah konjugasi selesai kedua sel berpisah kembali dan jumlah sel tidak bertambah (setelah konjugasi tidak dihasilkan anak sel). Oleh karena itu, proses konjugasi ini disebut juga sebagai proses atau mekanisme seksual yang tidak reproduktif.

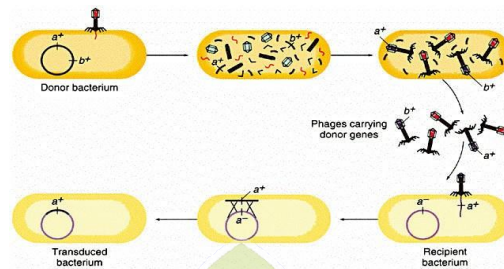
b. Transformasi

Merupakan pengambilan DNA oleh bakteri dari lingkungan di sekelilingnya. DNA yang berada di sekitar bakteri (DNA asing) dapat berupa potongan DNA atau fragmen DNA yang berasal dari sel bakteri lainnya atau dari organisme lainnya. Masuknya DNA dari lingkungan ke dalam sel bakteri ini dapat terjadi secara alami. Fenomena transformasi ini telah diamati oleh Griffith (1928) dan kelompok Avery (1944). Griffith (1928) telah menemukan bahwa strain bakteri yang tidak virulen (strain yang penampilan koloninya kasar) dapat berubah sifatnya menjadi strain yang virulen (penampilan koloninya halus). Perubahan sifat ini disebabkan karena strain yang tidak virulen (strain kasar) dicampur dengan sel-sel bakteri strain virulen (strain halus) yang telah dimatikan.

c. Transduksi

Cara pemindahan DNA dari satu sel ke dalam sel lainnya melalui perantara bakteriofage. Beberapa jenis virus berkembang biak di dalam sel bakteri. Virus-virus yang inangnya adalah bakteri sering disebut bakteriofag atau fage. Ketika virus menginfeksi bakteri, fage memasukkan DNA-nya ke dalam sel bakteri. DNA tersebut kemudian akan bereplikasi di dalam sel bakteri atau berintegrasi dengan kromosom bakteri. DNA fage yang dikemas ketika membentuk

partikel fage baru akan membawa sebagian DNA bakteri yang menjadi inangnya. Selanjutnya jika fage tersebut menginfeksi bakteri yang lain, maka fage akan memasukkan DNANYa yang sebagian mengandung DNA sel inang sebelumnya. Jadi, secara alami fage memindahkan DNA dari satu sle bakteri ke bakteri yang lain.



Gambar 2.2 Proses transduksi pada sel bakteri

2) Perangkat teknologi DNA rekombinan

Adapun perangkat yang digunakan dalam teknik DNA rekombinan diantaranya

a. Enzim restriksi

Digunakan untuk memotong DNA. Pada tahun 1960, Werner Arber & Hamilton Smith menemukan enzim dari mikroba yang dapat memotong DNA utas ganda. Enzim tersebut sekarang dikenal dengan nama enzim restriksi atau endonuklease restriksi. Enzim tersebut mengenal dan memotong DNA pada sekuens spesifik yang panjangnya 4 sampai dengan 6 pasang basa. Enzim tersebut sekarang dikenal dengan nama enzim restriksi atau enzim endonuklease restriksi. Secara alami, bakteri menghasilkan enzim restriksi untuk menghancurkan DNA fage yang menginfeksi (yang masuk ke dalam sel bakteri). Sampai saat ini sudah banyak jenis enzim restriksi yang telah ditemukan dan diisolasi dari berbagai spesies bakteri. Nama setiap enzim restriksi diawali dengan tiga huruf yang menyatakan nama bakteri yang menghasilkan enzim tersebut. Setiap enzim restriksi mengenal sekuens dan situs pemotongan yang khas.

Enzim restriksi memotong DNA bukan pada sembarang tempat, tetapi memotong DNA pada bagian tertentu. Bagian pada DNA yang dikenai aksi pemotongan oleh enzim restriksi ini dinamakan sekuens pengenalan.

b. Enzim DNA ligase

Digunakan untuk menyambung DNA. Pada tahun 1972, David Jackson, Robert Simon, dan Paul Berg melaporkan bahwa mereka berhasil membuat molekul DNA rekombinan. Mereka berhasil menggabungkan fragmen-fragmen DNA dengan cara memasang (anneal) ujung sticky ends dari satu fragmen dengan ujung sticky ends fragmen lainnya, kemudian menyambung kedua ujung fragmen-fragmen tersebut secara kovalen dengan menggunakan enzim DNA ligase. Keberhasilan membuat DNA rekombinan ini terjadi tidak lama setelah enzim restriksi ditemukan dan diisolasi pertama kali dari E.coli oleh Herbert Boyer yaitu pada tahun 1969 .

c. Plasmid

Digunakan sebagai vektor untuk mengklonkan gen atau mengklonkan fragmen DNA atau mengubah sifat bakteri. Pada umumnya bakteri mempunyai satu kromosom. Kromosom bakteri berupa DNA sirkular atau DNA yang berbentuk lingkaran. Disamping memiliki satu kromosom, berbagai jenis bakteri juga memiliki DNA sirkular lainnya yang ukurannya jauh lebih kecil dari pada DNA kromosomnya. DNA sirkuler selain kromosom yang terdapat pada bakteri dinamakan plasmid. Jadi, plasmid merupakan DNA bakteri yang terpisah dari kromosom bakteri. Plasmid dapat bereplikasi sendiri. Plasmid juga mengandung berbagai gen. Jenis, jumlah jenis, dan jumlah tiap jenis (copy) plasmid bervariasi antar sel. Bahkan antar sel dalam satu spesies bakteri.

d. Transposon

Digunakan sebagai alat untuk melakukan mutagenesis dan untuk menyisipkan penanda. Keberhasilan para ahli dalam melakukan rekayasa genetika terhadap berbagai organisme tidak lepas dari peranan transposon. Transposon atau elemen loncat mula-mula ditemukan oleh Barbara McClintock. Untuk sampai pada penemuan tentang adanya transposon, Barbara McClintock mempelajari

penyebab terjadinya variasi warna biji jagung. Seperti yang pernah anda pelajari sebelumnya bahwa biji jagung terbentuk sebagai hasil dari pembuahan ganda (dua pembuahan). Satu pembuahan menghasilkan zigot yang kemudian berkembang menjadi embrio yang tersimpan dalam biji jagung. Satu pembuahan lainnya menghasilkan endosperma. Endosperma inilah yang kita lihat penampilannya (yang nampak sebagai biji jagung). Endosperma ini merupakan bagian terbesar dari biji dan merupakan bagian penyimpan makanan. Endosperma inilah yang kita gunakan kandungan karbohidratnya untuk makanan kita maupun makanan ternak.

Jadi, transposon adalah DNA yang dengan sendirinya dapat berpindah-pindah tempat atau berpindah posisinya. Transposon dapat berpindah-pindah tempatnya pada satu molekul DNA atau pada satu kromosom. Transposon juga dapat pindah dari satu molekul DNA ke molekul DNA lainnya atau pindah dari satu kromosom ke kromosom lainnya. Karena memiliki kemampuan untuk berpindah tempat dengan sendirinya maka sering kali transposon disebut juga dengan nama elemen loncat.

e. Enzim transkripsi balik

Digunakan untuk membuat DNA berdasarkan RNA. Tidak lama setelah penemuan enzim restriksi, Howard Temin dan David Baltimore secara terpisah pada tahun 1970 menemukan enzim transkripsi-balik (reverse-transcriptase) yang digunakan oleh retrovirus untuk membuat copy DNA berdasarkan RNA-nya. Enzim transkripsi-balik ini kemudian digunakan untuk mengkonstruksi copy DNA yang disebut cDNA (complementary DNA) dengan menggunakan RNA sebagai cetakannya. Dengan demikian gen atau bagian dari gen dapat disintesis berdasarkan mRNA. Proses sintesis DNA dengan cara ini merupakan kebalikan dari pada proses transkripsi. Oleh karena itu dinamakan transkripsi balik.

Tahapan utama dalam pembuatan DNA menggunakan transkriptase balik ini adalah sebagai berikut:

1. DNA gen eukariot terdiri atas intron dan exon, pada waktu transkripsi semua bagian tersebut diterjemahkan oleh enzim transkriptase menjadi RNA.

2. Enzim transkriptasi balik mensintesis DNA dengan menggunakan mRNA tersebut sebagai cetaknya. Hasilnya berupa DNA utas tunggal.

3. Pelacak DNA / RNA

Digunakan untuk mendeteksi gen atau fragmen DNA yang diinginkan atau untuk mendeteksi klon yang benar.⁷

3. Hibridoma

Teknologi yang digunakan untuk menghasilkan antibodi monoklonal yang identik terhadap antigen spesifik dengan jumlah yang besar. Teknologi ini ditemukan pada tahun 1975 oleh George Kohler dan Cesar Milstein. Pembuatan antibodi dilakukan dengan cara menggabungkan sel limfosit-B dengan sel kanker. Hal ini dilakukan karena sel limfosit-B mampu menghasilkan antibodi namun memiliki waktu hidup yang terbatas dalam kultur. Keterbatasan ini dapat diatasi dengan cara penggabungan dengan sel kanker yang memiliki sifat dapat membelah dengan cepat. Dengan penggabungan tersebut, maka sel limfosit-B dapat membelah dengan cepat sehingga dapat dihasilkan antibodi yang identik dalam kultur sel. Sehingga sel hibridoma ini bersifat immortal.

Dengan demikian, teknologi hibridoma merupakan suatu bioteknologi modern yang menggabungkan dua sel untuk menghasilkan antibodi spesifik dengan jumlah besar.

4. Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif yang dilakukan dalam laboratorium secara *in vitro* yang didasarkan pada sifat totipotensi tumbuhan. Prinsip kultur jaringan adalah menumbuhkan jaringan maupun sel tumbuhan dalam suatu media buatan secara aseptik. Dalam teori tersebut dikatakan bahwa setiap sel tumbuhan mempunyai kemampuan untuk tumbuh menjadi

⁷ Tjahjoeleksono, Aris, (2011). Teknologi DNA Rekombinan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

individu baru apabila ditempatkan pada lingkungan yang sesuai. Sifat individu baru yang dihasilkan sama persis dengan sifat induknya.

Bagian tumbuhan yang ditumbuhkan dalam media kultur disebut eksplan. Eksplan yang sering digunakan merupakan bagian tumbuhan yang memiliki sel sel yang aktif membelah seperti ujung akar dan ujung batang. Potongan bagian tumbuhan yang ditanam pada media kultur akan tumbuh membentuk kalus. Kalus merupakan massa sel yang belum terdeferensiasi. Kalus tersebut akan berkembang menjadi tanaman lengkap yang disebut plantlet.

Media kultur jaringan yang digunakan biasanya agar agar yang ditambah dengan unsur hara dan vitamin yang dibutuhkan oleh tumbuhan media tersebut juga dapat ditambah dengan hormon pertumbuhan, misalnya auksin dan sitokinin. Auksin akan memicu pertumbuhan akar, sedangkan sitokinin akan memicu pertumbuhan tunas. Komposisi kultur jaringan tergantung pada spesies tumbuhan yang di perbanyak.

Dengan menggunakan teknik kultur jaringan, individu tumbuhan dapat diperbanyak dalam jumlah besar, yang setiap anaknya memiliki sifat genetik yang identik. Teknik ini telah digunakan untuk memperbanyak bibit unggul untuk pertanian.

Tahapan yang dilakukan dalam memperbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan adalah

a. Pembuatan Media

Media merupakan faktor penentu dalam memperbanyak dengan kultur jaringan. Media yang di gunakan biasanya terdiri dari garam mineral, vitamin, dan hormon. Selain itu di perlukan juga bahan tambahan seperti agar, gula, dan lain-lain. Zat pengatur tumbuh (hormon) yang ditambahkan juga bervariasi, baik jenisnya maupun jumlahnya, tergantung dengan tujuan dari kultur jaringan yang dilakukan. Media tumbuh dapat dibedakan menjadi media padat dan media cair. Media padat umumnya berupa padatan gel, seperti agar, dimana nutrisi dicampurkan pada agar. Media cair adalah nutrisi yang dilarutkan di air. Media cair dapat bersifat tenang atau dalam kondisi selalu bergerak, tergantung kebutuhan.

b. Inisiasi

Inisiasi adalah pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Bagian tanaman yang sering digunakan untuk kegiatan kultur jaringan adalah tunas. Eksplan dapat berasal dari : daun, tunas, cabang, batang, akar, embrio, kotiledon, hipokotil, epikotil

c. Sterilisasi

Sterilisasi adalah bahwa segala kegiatan dalam kultur jaringan harus dilakukan di tempat yang steril, yaitu di laminar flow dan menggunakan alat-alat yang juga steril. Sterilisasi juga dilakukan terhadap peralatan, yaitu menggunakan etanol yang disemprotkan secara merata pada peralatan yang digunakan. Teknisi yang melakukan kultur jaringan juga harus steril.

d. Multiplikasi

Multiplikasi adalah kegiatan memperbanyak calon tanaman dengan menanam eksplan pada media. Kegiatan ini dilakukan di laminar flow untuk menghindari adanya kontaminasi yang menyebabkan gagalnya pertumbuhan eksplan. Tabung reaksi yang telah ditanami eksplan diletakkan pada rak-rak dan ditempatkan di tempat yang steril dengan suhu kamar.

e. Pengakaran

Pengakaran adalah fase dimana eksplan akan menunjukkan adanya pertumbuhan akar yang menandai bahwa proses kultur jaringan yang dilakukan mulai berjalan dengan baik. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan akar serta untuk melihat adanya kontaminasi oleh bakteri ataupun jamur. Eksplan yang terkontaminasi akan menunjukkan gejala seperti berwarna putih atau biru (disebabkan oleh jamur) atau busuk (disebabkan bakteri).

f. Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah kegiatan memindahkan eksplan keluar dari ruangan aseptik ke bedeng. Pemindahan dilakukan secara hati-hati dan bertahap, yaitu dengan memberikan sungkup. Sungkup digunakan untuk melindungi bibit dari udara luar dan serangan hama penyakit karena bibit hasil kultur jaringan sangat rentan terhadap serangan

hama penyakit dan udara luar. Setelah bibit mampu beradaptasi dengan lingkungan barunya maka secara bertahap sungkup dilepaskan dan pemeliharaan bibit dilakukan dengan cara yang sama dengan pemeliharaan bibit generatif.⁸

5. Teknologi tanaman transgenik

Ahli rekayasa genetik tanaman melakukan transformasi gen dengan tujuan untuk memindahkan gen yang mengatur sifat-sifat yang diinginkan dari satu organisme ke organisme lainnya. Beberapa sifat yang banyak dikembangkan untuk pembuatan tanaman transgenik misalnya (1) gen resistensi terhadap hama, penyakit dan herbisida, (2) gen kandungan protein tinggi, (3) gen resistensi terhadap stres lingkungan seperti kadar aluminium tinggi ataupun kekeringan dan (4) gen yang mengekspresikan suatu ciri fenotipe yang sangat menarik seperti warna dan bentuk bunga, bentuk daun dan pohon yang eksotik.

Dalam hubungannya dengan pembuatan tanaman transgenik terdapat tiga komponen penting yaitu:

1. Isolasi gen target. Gen target yang kita inginkan misalnya gen Bt (gen tahan terhadap penggerek yang diisolasi dari bakteri *Bacillus thuringensis*) diekstrak kemudian dipotong dengan enzim restriksi. Gen yang sudah terpotong-potong kemudian diseleksi bagian gen mana yang menyandikan gen Bt dan diisolasi. Potongan gen Bt kemudian disisipkan ke dalam DNA sirkular (plasmid) sebagai vektor menghasilkan molekul DNA rekombinan gen Bt. Vektor yang sudah mengandung molekul DNA rekombinan gen Bt dimasukkan kembali ke dalam sel inang yaitu bakteri untuk diperbanyak. Sel inang akan membelah membentuk progeni baru yang sudah merupakan sel DNA rekombinan gen Bt.

⁸ Dwiyani rindang, Hestin, d.k.k, (2017). Modul Praktikum Teknologi Kultur Jaringan. Universitas Udayana. Bali

2. Proses transfer gen ke tanaman target. Agar sel DNA rekombinan get Bt dapat terintegrasi pada inti sel tanaman maka diperlukan vektor yang lain lagi untuk memindahkan gen Bt ke dalam inti sel tanaman. Vektor tersebut adalah bakteri *Agrobacterium tumefaciens*. Bakteri ini menyebabkan penyakit tumor pada tanaman. Penyakit ini akan terjadi bila terdapat luka pada batang tanaman sehingga memungkinkan bakteri menyerang tanaman tersebut. Luka pada tanaman mengakibatkan tanaman mengeluarkan senyawa opine yang merangsang bakteri untuk menyerang tanaman dimana senyawa ini merupakan sumber carbon dan nitrogen dari bakteri. Akibat masuknya bakteri menyebabkan terjadinya proliferasi sel yang berlebihan sehingga menimbulkan penyakit tumor pada tanaman. Kemampuan untuk menyebabkan penyakit ini pada tanaman ternyata ada hubungannya dengan DNA sirkular (plasmid) Ti (Tumor inducing plasmid) dalam sel bakteri *A.tumefaciens*. Sifat yang menyolok pada plasmid Ti ialah bahwa setelah infeksi oleh *A. tumefaciens*, sebagian dari molekul DNANYa berintegrasi dalam DNA kromosom tanaman. Segmen ini dikenal dengan nama T-DNA (transfer DNA). Metode kerjasama antara tanaman dan *A. tumefaciens* ini digunakan oleh ahli rekayasa genetika tanaman untuk memindahkan gen Bt agar dapat terintegrasi dalam sel tanaman. Oleh karena itu langkah selanjutnya adalah menyisipkan DNA rekombinan yang sudah membawa gen Bt ke dalam plasmid Ti dari *A. tumefaciens*. Setelah itu *A. tumefaciens* yang membawa gen Bt diinokulasikan pada tanaman. Proses inokulasi tersebut dilakukan pada tanaman target yang sedang diregenerasikan dalam kultur jaringan. Hal ini memudahkan bagi proses transfer gen Bt ke dalam inti jaringan tanaman dimana tanaman masih dalam proses pembelahan sel yang sangat aktif.
3. Ekspresi gen pada tanaman transgenik. Gen yang sudah dimasukkan ke dalam tanaman target dalam hal ini adalah

gen Bt yang mengekspresikan tanaman transgenik tahan terhadap hama penggerek harus dapat diekspresikan. Untuk mengetahui apakah gen tersebut terekspresi atau tidak digunakan penanda yaitu selectable and scoreable marker, dimana apabila tanaman target dapat tumbuh pada media yang mengandung antibiotika atau tanaman target menampilkan warna khusus (warna biru untuk penanda gen *gus*) maka tanaman target itu adalah tanaman transgenik.

Tanaman transgenic yang memiliki sifat tahan terhadap serangan hama, atau tahan terhadap cekaman lingkungan garam dengan tujuan untuk peningkatan produksi pangan.⁹

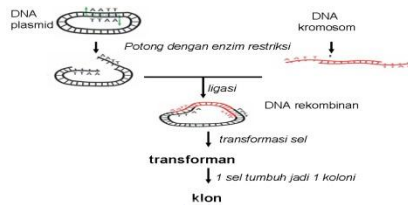
6. Kloning Gen

Sejak ditemukannya enzim restriksi (enzim yang dapat memotong DNA pada urutan yang spesifik) dan ditemukannya enzim ligase (enzim yang dapat menyambungkan potongan DNA), maka DNA dari organisme apa saja dapat diisolasi, dipotong-potong, disambungkan kembali dan dipindahkan ke organisme lain. Proses mengkombinasikan beberapa DNA dan memperbanyak DNA rekombinan tersebut di dalam sel disebut kloning. Proses memasukkan DNA ke dalam sel disebut transformasi dan sel yang dihasilkan disebut transforman. Agar suatu DNA dapat diperbanyak di dalam sel, maka DNA tersebut harus disisipkan ke dalam suatu plasmid (berfungsi sebagai vektor/pembawa) yang dapat bereplikasi di dalam sel. Kumpulan sel-sel yang mengandung plasmid rekombinan yang sama disebut sebagai suatu klon.

Pada kloning gen: suatu fragmen DNA yang mengandung gen yang akan di klon disisipkan pada molekul DNA vektor untuk menghasilkan molekul DNA rekombinan. DNA rekombinan ini digunakan untuk mentransformasi sel inang (biasanya bakteri). Di dalam sel, vektor mengadakan replikasi, menghasilkan banyak copy

⁹ Nurcahyo, Heru, (2011). Diktat Bioteknologi. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.

atau turunan yang identik, baik vektornya maupun gen yang dibawanya. Ketika sel inang membelah, copy molekul DNA rekombinan diwariskan pada progeni. Setelah terjadi sejumlah besar pembelahan sel, maka dihasilkan koloni atau klon sel inang yang identik. Tiap-tiap klon mengandung satu copy atau lebih molekul DNA rekombinan.



Gambar 2.3. Proses kloning

Kloning melibatkan lima komponen utama, yaitu : fragmen DNA (gen) yang akan di kloning (disebut juga DNA sisipan), DNA vektor (bisa plasmid, bakteriofaga atau cosmid), enzim restriksi, enzim ligase dan sel inang (bakteri atau ragi).

1. DNA sisipan

Tujuan kloning adalah memperbanyak suatu fragmen DNA dari suatu organisme dalam suatu sel inang. Namun tujuan akhirnya bisa bermacam-macam, diantaranya: produksi protein penting dengan skala besar, untuk deteksi patogen atau sel abnormal. DNA sisipan bisa diperoleh dengan dua cara, yaitu :

a. Produk PCR.

Fragmen DNA hasil pemotongan dengan enzim restriksi

b. DNA vektor

Vektor merupakan suatu mulekul DNA sirkular yang bertindak sebagai wadah untuk membawa DNA sisipan masuk ke dalam sel inang dan bertanggung jawab atas replikasinya. Berdasarkan fungsinya vektor dapat dibagi dua, yaitu : vektor

kloning dan vektor ekspresi. Vektor kloning hanya berfungsi untuk memperbanyak fragmen DNA yang disisipkan, sehingga fragmen DNA tersebut hanya direplikasi, tidak di transkripsi. Biasanya vektor ini digunakan untuk tujuan sekuensing atau untuk perbanyakan DNA yang nantinya akan di sisipkan ke vektor ekspresi. Sementara vektor ekspresi digunakan untuk memproduksi protein dari gen yang diklon.

2. Plasmid

Plasmid merupakan DNA rantai ganda yang berbentuk sirkular dan terdapat bebas di dalam sel. Plasmid dapat bereplikasi sendiri di dalam sel inang karena mempunyai suatu urutan DNA spesifik yang disebut ori (origin of replication/titik awal replikasi). Plasmid hampir selalu membawa satu gen atau lebih yang menyebabkan ciri- ciri penting yang ditunjukkan oleh bakteri inang, misalnya plasmid yang membawa gen resistan antibiotik

3. Vektor ekspresi

Vektor ekspresi merupakan vektor yang mana disamping dapat bereplikasi sendiri juga mengandung sinyal-sinyal ekspresi, sehingga gen yang di klon juga akan ditranskripsi menjadi mRNA dan kemudian ditranslasi menjadi protein. Vektor ekspresi memungkinkan untuk produksi protein hewan, manusia atau tanaman di dalam bakteri. Tiga sinyal ekspresi yang paling penting adalah : (1) Promotor transkripsi, (2) terminator transkripsi, dan (3) tempat pengikatan ribosom. Selain sistem vektor ekspresi untuk bakteri, juga terdapat beberapa sistem vektor ekspresi untuk *Saccaromyces cerevisiae* dan vektor ekspresi untuk *Pichia pastoris*. Kedua jenis sistem ekspresi ini terbukti dapat memproduksi protein eukariot dengan hasil yang tinggi dan berfungsi seperti protein natif (asli).

Tahapan-tahapan kloning

Tahapan pengerjaan kloning DNA/gen adalah sebagai berikut :

1. Isolasi/ preparasi DNA

Sebelum disisipkan ke suatu DNA vektor, maka DNA sisipan harus diisolasi terlebih dulu. Beberapa prinsip isolasi DNA sudah

dijelaskan di atas. Selain itu DNA sisipan juga dapat diperoleh dari produk PCR.

2. Pemotongan DNA dengan enzim restriksi

Molekul plasmid yang digunakan sebagai vektor harus dipotong untuk membuka DNA lingkaran, sehingga molekul DNA asing bisa disisipkan. Enzim restriksi merupakan suatu endonuklease yang mengenal urutan spesifik pada molekul DNA dan memotong pada urutan yang spesifik tersebut. Sisi pengenalan enzim restriksi umumnya merupakan suatu polindrom, dimana urutan nukleotida rantai atas sama dengan urutan nukleotida rantai bawah. Misalnya :



Enzim restriksi hanya terdapat pada beberapa bakteri, dan berfungsi untuk mempertahankan diri dari infeksi bakteriofaga. Contoh beberapa enzim restriksi dan sisi pengenalannya:

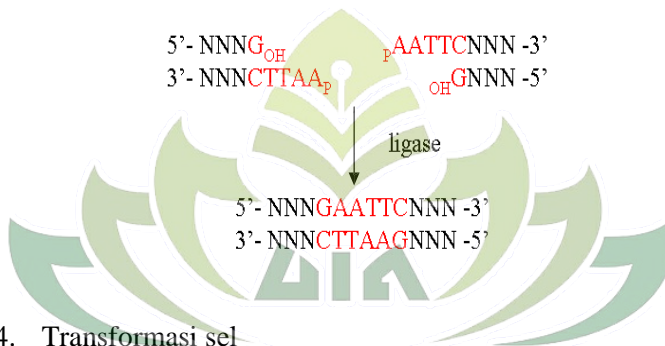
Nama enzim	Sumber bakteri	Urutan
AluI	Arthrobacter luteus	AG↓CT
BamHI	Bacillus	G↓GATCC
ClaI	Caryophanon latum	AT↓GCAT
EcoRI	Escherichia coli	G↓AATTC
HaeIII	Haemophilus	GG↓CC
HindIII	Haemophylus	A↓AGCTT
KpnI	Klebsiella	GGTAC↓C
NotI	Nocardia otidis	GC↓GGCCGC
PstI	Providencia stuartii	CTGCA↓G

XbaI	Xanthomonas bradii	T↓CTAGA
XhoI	Xanthomonas	C↓TCGAG

Tabel 3.1. Beberapa enzim restriksi dan urutan pengenalnya

3. Penyambungan DNA dengan enzim ligase

Apabila dua molekul DNA mempunyai ujung rantai tunggal yang komplementer, maka kedua ujung DNA tersebut dapat berpasangan, kemudian enzim ligase dapat membentuk ikatan fosfodiester antara kedua molekul DNA tersebut. Reaksi enzimatik ini memerlukan energi dari ATP.



4. Transformasi sel

Untuk memasukkan DNA ke dalam sel bakteri, sel tersebut harus diberi perlakuan agar menjadi sel kompeten, yaitu sel yang mampu menerima DNA dari luar. Kemampuan paling tinggi untuk memasukkan DNA dari luar terjadi pada sel yang berada dalam fase logaritmik, yaitu pada waktu pertumbuhan sel sedang cepat. Perlakuan dengan CaCl_2 menyebabkan dinding sel menjadi lebih permeabel dan bermuatan positif, sehingga dapat menarik DNA yang bermuatan negatif. Transformasi (pengambilan DNA oleh sel bakteri) dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu : (1) dengan cara heat shock (kejutan panas) dimana campuran sel dan DNA plasmid rekombinan didinginkan dalam waktu yang lama, kemudian di panaskan dengan segera pada suhu 42°C . (2) dengan cara elektroporasi (kejutan listrik) menggunakan suatu alat yang dialiri arus listrik.

5. Seleksi klon rekombinan

Sel inang yang telah ditransformasi kemudian ditumbuhkan pada media padat yang sesuai pada suhu 37 °C. Setelah inkubasi semalam, maka kita akan mendapatkan koloni-koloni bakteri yang tumbuh di media padat. Satu koloni bakteri terdiri dari jutaan sel bakteri yang mempunyai sifat yang sama. Sehingga klon-klon ini perlu dipilih untuk menentukan mana koloni bakteri yang membawa plasmid rekombinan.

6. Isolasi DNA plasmid

DNA plasmid rekombinan, kemudian dapat diisolasi untuk kepentingan pengerjaan berikutnya dengan menggunakan metoda yang sudah dijelaskan di atas. DNA ini selanjutnya dapat di karakterisasi, misalnya disekuensing untuk menentukan urutan nukleotidanya atau dapat juga di potong dengan enzim restriksi kemudian di kloning ke vektor ekspresi.¹⁰

7. PCR (Polimerase Chain Reaction)

PCR (Polymerase Chain Reaction) merupakan suatu teknik perbanyakan (amplifikasi) potongan DNA secara in vitro pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer oligonukleotida. Primer yang digunakan sebagai pembatas daerah yang diperbanyak adalah DNA untai tunggal yang urutannya komplemen dengan DNA templatnya. Proses tersebut mirip dengan proses replikasi DNA secara in vivo yang bersifat semi konservatif.

PCR memungkinkan adanya perbanyakan DNA antara dua primer, hanya di dalam tabung reaksi, tanpa perlu memasukkannya ke dalam sel (in vivo). Pada proses PCR dibutuhkan DNA untai ganda yang berfungsi sebagai cetakan (templat) yang mengandung DNA-target (yang akan di amplifikasi) untuk pembentukan molekul DNA baru, enzim DNA polimerase, deoksinukleosida trifosfat (dNTP), dan sepasang primer oligonukleotida. Pada kondisi tertentu, kedua primer

¹⁰ Tjahjoeleksono, Aris, (2011). Teknologi DNA Rekombinan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

akan mengenali dan berikatan dengan untai DNA komplemennya yang terletak pada awal dan akhir fragmen DNA target, sehingga kedua primer tersebut akan menyediakan gugus hidroksil bebas pada karbon 3'. Setelah kedua primer menempel pada DNA templat, DNA polimerase mengkatalisis proses pemanjangan kedua primer dengan menambahkan nukleotida yang komplemen dengan urutan nukleotida templat. DNA polimerase mengkatalisis pembentukan ikatan fosfodiester antara OH pada karbon 3' dengan gugus 5' fosfat dNTP yang ditambahkan. Sehingga proses penambahan dNTP yang dikatalisis oleh enzim DNA polimerase ini berlangsung dengan arah 5'→3' dan disebut reaksi polimerisasi. Enzim DNA polimerase hanya akan menambahkan dNTP yang komplemen dengan nukleotida yang terdapat pada rantai DNA templat.

PCR melibatkan banyak siklus yang masing-masing terdiri dari tiga tahap berurutan, yaitu pemisahan (denaturasi) rantai DNA templat, penempelan (annealing) pasangan primer pada DNA target dan pemanjangan (extension) primer atau reaksi polimerisasi yang dikatalisis oleh DNA polimerase.

1. Tahapan PCR

a. Denaturasi

Selama proses denaturasi, DNA untai ganda akan membuka menjadi dua untai tunggal. Hal ini disebabkan karena suhu denaturasi yang tinggi menyebabkan putusnya ikatan hidrogen diantara basa-basa yang komplemen. Pada tahap ini, seluruh reaksi enzim tidak berjalan, misalnya reaksi polimerisasi pada siklus yang sebelumnya. Denaturasi biasanya dilakukan antara suhu 90 °C – 95 °C.

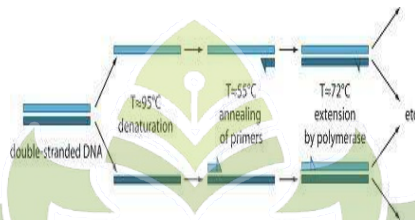
b. Penempelan primer

Tahap penempelan primer (annealing), primer akan menuju daerah yang spesifik yang komplemen dengan urutan primer. Pada proses annealing ini, ikatan hidrogen akan terbentuk antara primer dengan urutan komplemen pada templat. Proses ini biasanya

dilakukan pada suhu $50^{\circ}\text{C} - 60^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya, DNA polymerase akan berikatan sehingga ikatan hidrogen tersebut akan menjadi sangat kuat dan tidak akan putus kembali apabila dilakukan reaksi polimerisasi selanjutnya, misalnya pada 72°C .

c. Reaksi polimerisasi (extension)

Umumnya, reaksi polimerisasi atau perpanjangan rantai ini, terjadi pada suhu 72°C . Primer yang telah menempel tadi akan mengalami perpanjangan pada sisi 3'-nya dengan penambahan dNTP yang komplemen dengan templat oleh DNA polymerase.



Gambar 2.4. Siklus PCR, yang terdiri dari denaturasi, penempelan primer (annealing) dan polimerisasinya

2. Komponen PCR

1. Enzim DNA

Dalam sejarahnya, PCR dilakukan dengan menggunakan Klenow fragment DNA Polimerase I selama reaksi polimerisasinya. Enzyme ini ternyata tidak aktif secara termal selama proses denaturasi, sehingga peneliti harus menambahkan enzim di setiap siklusnya. Selain itu, enzim ini hanya bisa dipakai untuk perpanjangan 200bp dan hasilnya menjadi kurang spesifik. Untuk mengatasi kekurangan tersebut, dalam perkembangannya kemudian dipakai enzim Taq DNA polymerase yang memiliki keaktifan pada suhu tinggi. Oleh karenanya, penambahan enzim tidak perlu dilakukan di setiap siklusnya, dan proses PCR dapat dilakukan dalam satu mesin

2. Primer

Primer merupakan oligonukleotida pendek rantai tunggal yang mempunyai urutan komplemen dengan DNA templat yang akan diperbanyak. Panjang primer berkisar antara 20-30 basa. Untuk merancang urutan primer, perlu diketahui urutan nukleotida pada awal dan akhir DNA target. Primer oligonukleotida di sintesis menggunakan suatu alat yang disebut DNA synthesizer.

3. Reagen lainnya

Selain enzim dan primer, terdapat juga komponen lain yang ikut menentukan keberhasilan reaksi PCR. Komponen tersebut adalah dNTP untuk reaksi polimerisasi, dan buffer yang mengandung $MgCl_2$. Konsentrasi ion Mg^{2+} dalam campuran reaksi merupakan hal yang sangat kritis. Konsentrasi ion Mg^{2+} ini sangat mempengaruhi proses primer annealing, denaturasi, spesifisitas produk.¹¹

8. Beberapa Produk Pemanfaatan Rekayasa Genetika

1. Produksi Obat Sel Mammalia

Mikroorganisme transgenik yang memiliki sifat dapat memproduksi: obat-obatan terhadap penyakit infeksi (antibiotik) seperti penisilin, streptomysin. hormon, sebagai contoh insulin untuk terapi penderita kencing manis.

2. Produksi Vaksin Rekombinan

Vaksin rekombinan yang berguna untuk pencegahan jenis penyakit tertentu sekaligus karena mengandung beberapa protein antigen sehingga dapat melindungi dari serangan berbagai penyakit menular. Masalah untuk memproduksi virus (parasit obligat intraseluler) memerlukan sel hidup, jika menggunakan sel hewan memerlukan banyak hewan. Solusi, menggunakan kultur jaringan hewan lebih efisien. Berbagai problem

¹¹ Gaffar, Shabarni, (2007). Buku Ajar Bioteknologi Molekul. Universitas Padjajaran. Bandung.

dengan produksi vaksin secara konvensional di atas, terutama masalah keamanan, digunakan teknologi rekombinan untuk memproduksi vaksin yang lebih aman dan potensial. Subunit virus diproduksi oleh bakteri atau yeast (kapang). Salah satu pemanfaatan kultur sel secara komersial pertama kali sebagai media untuk memproduksi virus. Virus merupakan mikroorganisme yang bersifat sebagai parasit obligat intraseluler.

Vaksin viral dapat dibedakan menjadi 2 tipe yaitu:

- a. Vaksin hidup (*live vaccine*) dari virus hidup yang kurang poten terhadap manusia.
- b. Vaksin mati (*killed vaccine*) dari agen yang telah dimatikan.

Biasa digunakan kultur sel dari embrio ayam (*chicken embryo*) untuk memproduksi vaksin influenza dan *yellow fever*.

Keuntungan teknologi rekombinan DNA dapat dihasilkan vaksin yang melawan virus yang tidak dapat tumbuh pada medium kultur terhadap titer tinggi untuk memberi antigen yang cukup untuk keberhasilan vaksinasi. Sekali vaksinasi dapat memberikan beberapa kekebalan sekaligus terhadap berbagai jenis virus dengan cara menyisipkan gena berbagai imunogen pada plasmid bakteri. Sebagai contoh: penyakit tetelo, Marek's, cacar ayam. Berbagai problem dengan produksi vaksin secara konvensional di atas, terutama masalah keamanan, digunakan teknologi rekombinan untuk memproduksi vaksin yang lebih aman dan potensial. Subunit virus diproduksi oleh bakteri atau yeast (kapang). Keuntungan teknologi rekombinan DNA dapat dihasilkan vaksin yang melawan virus yang tidak dapat tumbuh pada medium kultur terhadap titer tinggi untuk memberi antigen yang cukup untuk keberhasilan vaksinasi. Sekali vaksinasi dapat memberikan beberapa kekebalan sekaligus terhadap berbagai jenis virus dengan cara menyisipkan gena berbagai imunogen pada plasmid bakteri. Sebagai contoh: penyakit tetelo, Marek's, cacar ayam. Produksi zat kebal (antibodi) monoklonal untuk terapi, penelitian, dan diagnosis penyakit.

No	Jenis Virus	Sel yang digunakan
1	Cacar air	Fibroblas embrio ayam
2	Polio (inaktif)	Sel ginjal monyet
3	Polio (aktif/hidup)	Sel diploid manusia,
4	Rabies	Sel diploid manusia

3. Terapi Gena

Terapi gena bertujuan untuk membetulkan kelainan metabolisme karena bawaan sejak lahir dengan cara menyisipkan gene normal ke organisme penderita. Terapi gene sel somatik dari sudut pandang sosial masih menimbulkan masalah pro dan kontra. Masih dipertimbangkan dengan alasan karena resiko dan keamanan. Untuk terapi gena dengan tujuan untuk mereparasi gena karena cacat bawaan yang menyebabkan perubahan genotipe keturunannya.

Sel diekstraksi dikeluarkan dari tubuh kemudian ditumbuhkan dalam medium kultur selanjutnya genenya dimanipulasi dikembalikan ke pasien (penderita) yang jaringannya diambil. Permasalahan pada penderita kelainan genetik yang dibawa sejak dalam kandungan belum ada terapi sehingga perlu terapi gene.¹²

¹² Seprianto, (2017). Modul Rekayasa Genetika. Universitas Esa Unggul. Jakarta.

LATIHAN SOAL!

Jawablah pertanyaan dibawah ini dengan benar!

1. Sebutkan prinsip dari rekayasa genetika?
2. Jelaskan mengenai teknik kultur jaringan?
3. Jelaskan mengenai teknologi DNA rekombinan beserta tahapannya?
4. Jelaskan mengenai kloning gen beserta tahapannya?
5. Jelaskan mengenai teknik hibridoma?



DAFTAR RUJUKAN

- Tjahjoeleksono, Aris, (2011). Teknologi DNA Rekombinan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Dwiyani rindang, Hestin, d.k.k, (2017). Modul Praktikum Teknologi Kultur Jaringan. Universitas Udayana. Bali
- Dosen Pendidikan Biologi, (2015). Materi penataran Guru guru MGMP Bidang Biologi. FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Gaffar, Shabarni, (2007). Buku Ajar Bioteknologi Molekul. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Nurcahyo, Heru, (2011). Diktat Bioteknologi. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Seprianto, (2017). Modul Bioteknologi Dasar. Universitas Esa Unggul. Jakarta.
- Seprianto, (2017). Modul Rekayasa Genetika. Universitas Esa Unggul. Jakarta.
- Tajuddin, Teuku, (2011). Pengantar bioteknologi. Universitas terbuka. *Jurnal bioteknologi.*